

THE FORMATION OF BIOFILM CANDIDA ALBICANS ON THE SURFACE OF THE MEDICAL CATHETERS: A STUDY IN VITRO

Sinetar E.A., Avdeeva L.V., Skoryk M.A., Brych O.I.

ФОРМУВАННЯ БІОПЛІВКИ CANDIDA ALBICANS НА ПОВЕРХНІ МЕДИЧНИХ КАТЕТЕРІВ: ДОСЛІДЖЕННЯ IN VITRO

Н

ині широко вивчається роль біоплівки у розвитку катетерасоційованих інфекцій сечовивідних шляхів (КА ІСВШ). За даними зарубіжних дослідників, гриби роду *Candida* у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії (ВРІТ) посідають третє місце серед збудників катетерасоційованих інфекцій [4, 5]. Серед грибів роду *Candida* контамінація сечовивідних шляхів найчастіше зумовлена культурами *C. albicans*. Частота виділення *C. albicans* у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії становить 48-63% [7].

Встановлено, що у разі тривалого використання сечових катетерів мікробні біоплівки виявляють у 100% випадків, при цьому у 72% у складі біоплівки зустрічаються гриби роду *Candida* [3]. Утворення мікробних біоплівок на поверхні сечових катетерів спричиняє низку гострих та хронічних захворювань, які

важко піддаються лікуванню, часто рецидивують, оскільки збільшення маси біоплівки та її фрагментація призводять до виділення мікроорганізмів у сечу (планктонні форми), до розвитку асимптомних та симптомних КАІСВШ [6].

Слід відзначити, що фізико-хімічні властивості матеріалу, з якого виготовлений катетер, також можуть бути одним з факторів ризику інфікування. Нині для виготовлення катетерів найчастіше застосовують силіконові, латексні та полівінілхлоридні матеріали, проте єдиної думки щодо переваги використання певного виду катетера у конкретній клінічній ситуації немає [8].

Мета роботи: вивчення особливостей формування біоплівки дріжджоподібними грибами *Candida albicans* на сегментах силіконового та латексного катетерів.

Матеріали і методи. Вивчення процесів утворення

СИНЕТАР Е.О., АВДЕЄВА Л.В., СКОРИК М.А., БРИЧ О.І.

ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України", м. Київ, ТОВ "НаноМедТех", м. Київ

УДК 579.262.001.8:616-089.819

Ключові слова:
***Candida albicans*,
силіконові, латексні
катетери, біоплівка.**

ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ CANDIDA ALBICANS НА ПОВЕРХНОСТИ МЕДИЦИНСКИХ КАТЕТЕРОВ: ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO

Синетар Э.А., Авдеева Л.В., Скорик Н.А., Брич О.И.

ГУ "Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины", г. Киев,

ООО "НаноМедТех", г. Киев

Цель: изучение особенностей формирования биопленки дрожжеподобными грибами *Candida albicans* на сегментах силиконового и латексного катетеров.

Методы: исследование проводили с применением бактериологических и электронно-микроскопических методов.

Результаты. Процесс прикрепления клеток *C. albicans* более выражен при инкубации сегментов в течение 24 часов на силиконовом катетере по сравнению с латексным. Формирование зрелой биопленки на сегментах силиконового катетера

наблюдали в течение 48 часов, тогда как на сегментах латексного катетера обнаружены единичные объединения свободно расположенных клеток *C. albicans* и отсутствие конгломератов в структуре биопленки.

Выводы. Установлено, что образование биопленки на сегментах силиконового и латексного катетеров зависит от продолжительности его контакта с бактериальной культурой *C. albicans* и от материала катетера.

Для кратковременной катетеризации мочевыводящих путей может быть рекомендовано применение латексного катетера, поскольку на его сегментах наблюдалось более медленное прикрепление клеток *C. albicans* по сравнению с силиконовым катетером.

Ключевые слова: *Candida albicans*, силиконовые, латексные катетеры, биопленка.

THE FORMATION OF BIOFILM CANDIDA ALBICANS ON THE SURFACE OF THE MEDICAL CATHETERS: A STUDY IN VITRO

Sineta E.A., Avdeeva L.V., Skoryk M.A., Brych O.I.

State Institution "The L.V. Gromashevsky institute of epidemiology and infectious diseases of NAMS of Ukraine", Kyiv
"NanoMedTech LLC", Kyiv

Aim. It was to study the characteristics of biofilm formation of *Candida albicans* yeast fungi on segments of silicone and latex catheters.

Methods. The study was performed with the use of bacteriological and electron microscopic methods.

Results. The process of attaching cells *C. albicans* more pronounced in segments incubated for 24 h. silicone catheter compared

with latex. Formation of mature biofilms on silicone catheter segments were observed for 48 h., while the latex catheter segments were found singly associations freely arranged cells *C. albicans* and lack of conglomerates in the structure of the biofilm.

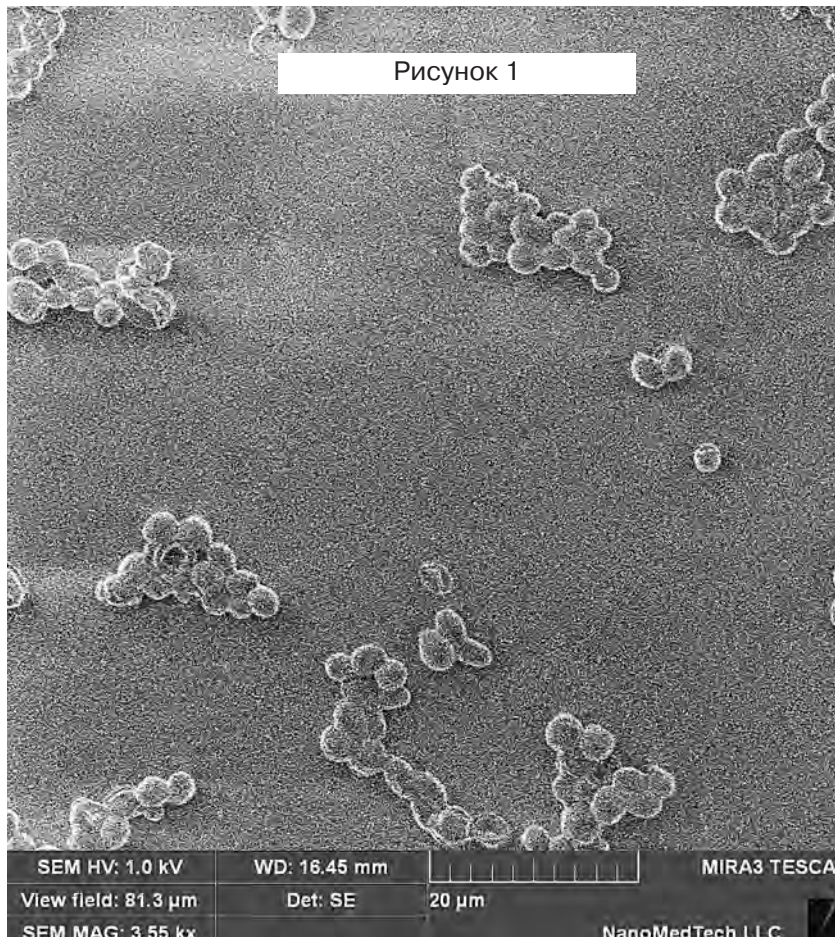
Conclusions. It was established that the formation of biofilm on the segments of silicone and latex catheters depends on the duration of its contact with the bacterial culture of *C. albicans* and the type of catheter. For short-term catheterization of the urinary tract may be recommended to use latex catheter segments because it was observed slower attachment of cells *C. albicans* compared to silicone catheter.

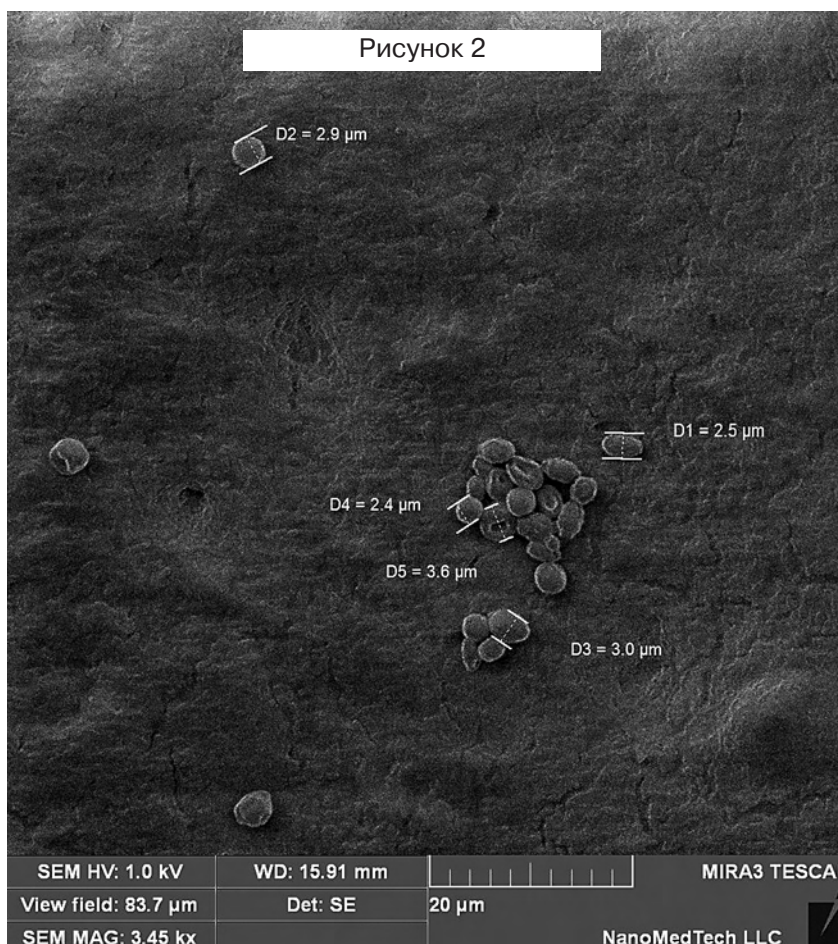
Keywords: *Candida albicans*, silicone, latex catheters, biofilm.

біоплівки проводили з використанням штаму *Candida albicans* 11, який виділено з сечі хворого відділення реанімації та інтенсивної терапії (ВРІТ). Для дослідження біоплівкоутворення *C. albicans* сегменти силіконових та латексних катетерів (виробник: Jiangsu Suyun Medical Materials Co., КНР) занурювали у попередньо приготовану у фізіологічному розчині завись *C. albicans* у концентрації $1,5 \times 10^8$ КУО/мл, яку встановлювали за допомогою денситометра DENSIMAT (BioMerieux, Франція) і набору стандартів оптичної густини бактеріальних зависей McFarland. Після інкубації зазначених вище сегментів у термостаті при температурі 37°C за 24, 48, 72 годин їх забарвлювали розчином генціан-віолету, тричі промивали дистильованою водою і фіксували протягом 30 хв. 96% етиловим спиртом. Дослідження особливостей утворення біоплівки *C. albicans* на поверхні латексного та силіконового матеріалів проводили за допомогою скануючого електронного мікроскопа Tescan Mira 3 LMU. Традиційно при дослідженні таких зразків методами скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) для запобігання локального накопичення заряду у ділянці, що досліджується, поверхня зразка покривається тонким шаром (15-20 нм) струмопровідного матеріалу (Au, Pt, C). Проте у даному експерименті було викори-

стано режими з низькою прискорюючою напругою. Це дозволило знизити рівень локального накопичення заряду поверхнею та отримати достатню просторову роздільну здатність для спостереження біоплівки та бактерій. Відмова від додаткових етапів прободіготовки (напилення струмопровідної плівки) дозволила запобігти появі суттєвих спотворень поверхні, що досліджувалася.

Результати та їх обговорення. Раніше нами було встановлено, що штам *C. albicans* характеризувався високою адгезивністю за значенням показника індексу адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) склав $8,3 \pm 3,0$. За результатами дослідження чутливості штаму до чотирьох противікових препаратів з використанням автоматичного аналізатора VITEK 2-compact 15 та карт AST-YSO1 (вироб-





ництва BioMerieux, Франція) *C. albicans* був стійким до флуцитозину.

Відомо, що процес формування біоплівки розпочинається з прикріплення клітин *C. albicans* до поверхні сегментів силіконового та латексного катетерів. Прикріплення клітин *Candida* до субстрату (катетера) на початковому етапі забезпечується такими неспецифічними факторами, як гідрофобність поверхні та електростатичні сили. У подальшому відбувається клітинний поділ, проліферація та диференціація дріжджоподібних клітин у гіфи [1].

Нами встановлено, що на поверхні та всередині силіконового катетера протягом 24 годин *in vitro* формуються основні структурні одиниці біоплівки — мікроколонії *C. albicans*, які складаються з острівців щільно об'єднаних дріжджоподібних клітин (рис. 1).

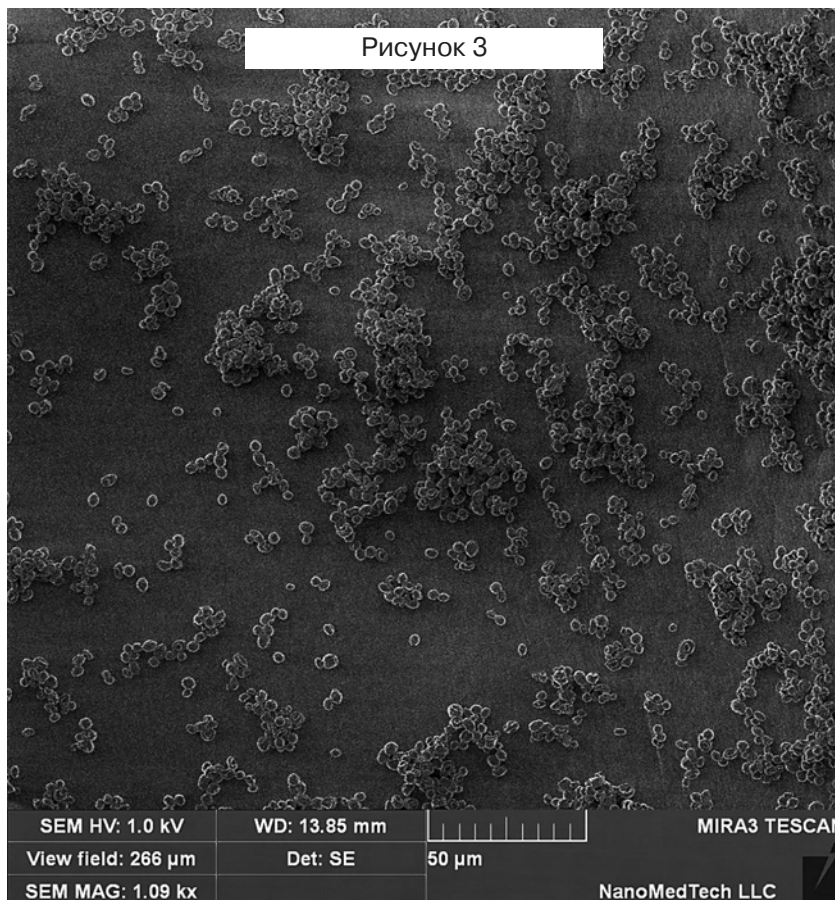
Щоправда, в окремих ділянках виявлено поодинокі та парно розташовані клітини на поверхні та всередині сегментів катетера, тобто прос-

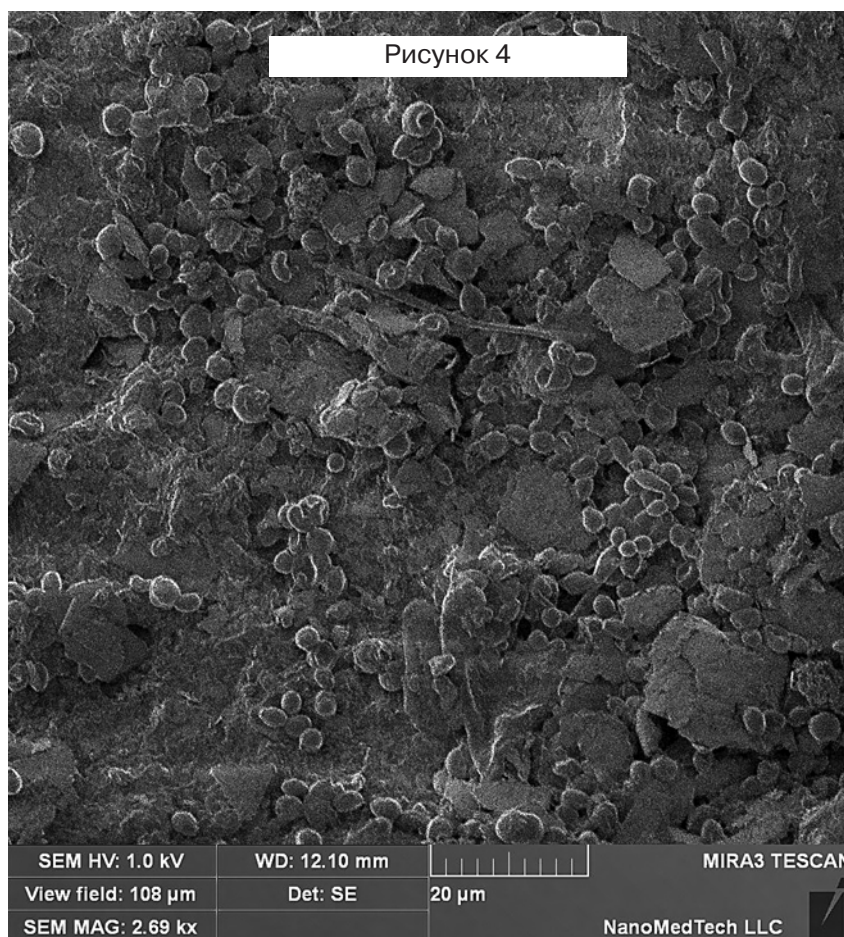
лідковувалася динаміка подальшого їх угруповання.

Дослідження, проведені зарубіжними вченими, свідчать про однотипність структури біоплівки *C. albicans*, які утворюються у різних модельних системах *in vitro* та *in vivo* [2].

Загальна архітектура біоплівки може варіювати залежно від властивостей субстрату (хімічної природи матеріалу катетера), на якому вона розвивається, та умов росту [1]. Так, під час інкубації сегментів латексного катетера протягом 24 годин *in vitro* порівняно з силіконовим спостерігали менш виражений початковий етап прикріплення грибкових клітин до поверхні сегментів катетера (рис. 2).

Подальша інкубація сегментів силіконового катетера протягом 48 годин призводила до об'єднання вільно розташованих клітин *C. albicans* та утворення конгломератів у структурі біоплівки. У деяких ділянках між конгломератами залишаються окремі мікроколонії дріжджоподібних клітин (рис. 3). Водночас під час інкубації сегментів латексного катетера *in vitro* протягом 48 годин спостерігалось





зменшення проміжків між окремими утвореннями. Процес подальшого групування клітин *C. albicans* характеризувався злиттям близько розташованих клітин (рис. 4).

На кінцевому етапі інкубації сегментів латексного катетера протягом 72 годин спостерігається подальше об'єднання острівців клітин *Candida*, зменшення простору між окремими структурними елементами зрілої біоплівки, злиття конгломератів (рис. 5).

Під час інкубації сегментів силіконового катетера протягом 72 годин в окремих ділянках спостерігали фрагменти аутолізу клітин дріжджоподібних грибів. Можливо, їхні компоненти у подальшому слугують поживним субстратом для росту клітин спокою (рис. 6).

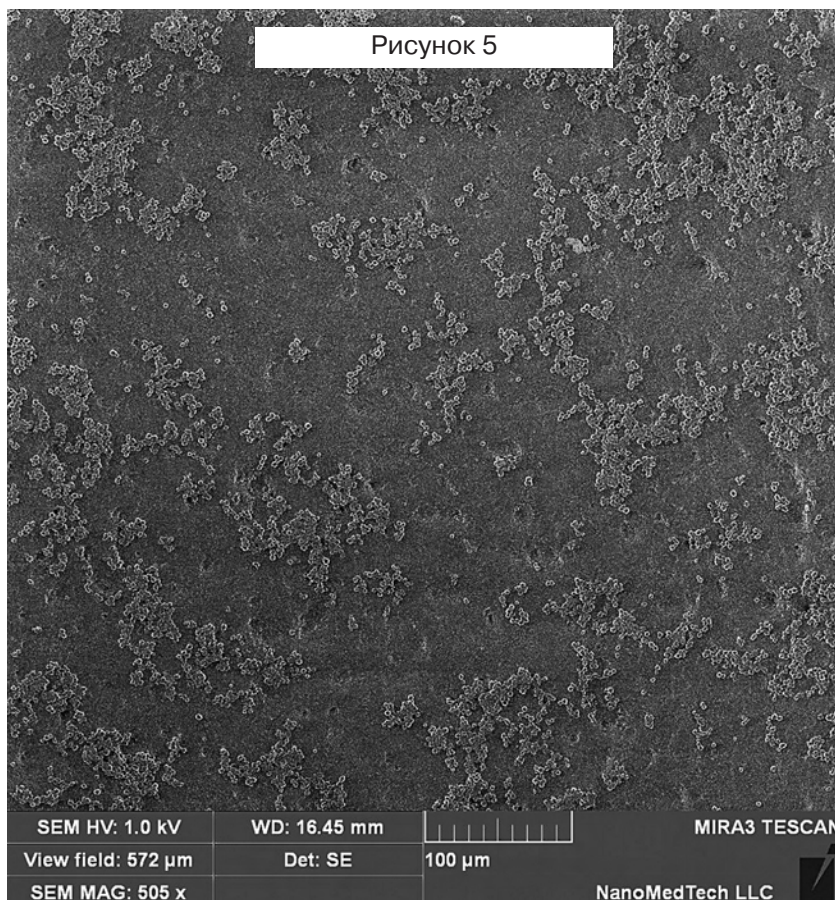
Висновки

1. Утворення біоплівки на сегментах силіконового та латексного катетерів залежить не лише від тривалості його контакту з бактеріальною культурою *C. albicans*, а

також від матеріалу, з якого вироблено катетер.

2. Мікроорганізми з високим ступенем адгезивності інтенсивно колонізують поверхні катетерів і формують виражену структуру біоплівки. За умов більш тривалої катетеризації підвищується ризик колонізації сечовивідних шляхів *C. albicans* і подальший розвиток інфекційних ускладнень.

3. Проведені дослідження дозволяють рекомендувати для короткотривалої (не більше 48 годин) катетеризації сечовивідних шляхів застосування латексного катетера, оскільки на його сегментах спостерігалось більш повільне прикріплення клітин *C. albicans* порівняно з силіконовим катетером.



ЛІТЕРАТУРА

1. Мавров И.И., Васильченко В.Н., Белозоров А.П. Биопленки и quorum sensing у микроорганизмов // Дерматология та венерология. — 2008. — № 1 (39). — С. 40-43.
2. Douglas L.J. Candida biofilms and their role in infection // Trends Microbiol. — 2003. — 11, № 1. — P. 30-36.
3. Пинегина О.Н., Сатурнов А.В., Выборнова Г.Г. и др. Изучение видового состава микроорганизмов в биопленках на венозных и уретральных катетерах в отделениях реанимации и интенсивной терапии // Проблемы мед. микол. — 2009. — Т. 11, № 2. — С. 105.

4. Coogan M.M., Fidel P.L., Komesu M.C. et al. Candida and mycotic infections // Adv. Dent. Res. — 2006. — 19, № 1. — P. 130-138.

5. De Cicco M., Campisi C. and Matovic M. Central venous catheter-related bloodstream infections: pathogenesis factors, new perspectives in prevention and early diagnosis // J. Vascus. Access. — 2003. — 4, № 1. — P. 83-91.

6. Trautner B.W., Darouiche R.O. Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection // Am. J. Infect. Control. — 2004. — 32, № 3. — P. 177-183.

7. Rangel-Frausto M., Wiblin T., Blumberg H. National epidemiology of mycosis survey (NEMIS): variations in rates of bloodstream infections due to Candida species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. [Text] // Clin. Infect. Dis. — 1999; 29. — P. 253-258.

8. Tenke П., Ковач Б., Йохансен Бьерклунд Т.Е. и др. Европейско-азиатские рекомендации по ведению пациентов с инфекциями, связанными с

уретральным катетером, и по профилактике катетер-ассоциированных инфекций // Клинич. микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2008. — Т. 10, № 3. — С. 201-215.

REFERENCES

1. Mavrov I.I., Vasilchenko V.N., Belozorov A.P. Biofilm formation and quorum sensing in microorganisms // Dermatologiya and venerologiya. — 2008. — № 1 (39). — P. 40-43.

2. Douglas L.J. Candida biofilms and their role in infection // Trends Microbiol. — 2003. — 11, № 1. — P. 30-36.

3. Pinegina O.N., Saturnov A.V., Vybornova G.G. et al. The study of the species composition of microorganisms in biofilms on the venous and urethral catheters in intensive care units and intensive care // Problems J. Med. Mycol. — 2009. — V. 11, № 2. — P. 105.

4. Coogan M.M., Fidel P.L., Komesu M.C. et al. Candida and mycotic infections // Adv. Dent. Res. ? 2006. — 19, № 1. — P. 130-138.

5. De Cicco M., Campisi C. and Matovic M. Central venous catheter-related bloodstream infections: pathogenesis factors, new perspectives in prevention and early diagnosis // J. Vascus. Access. — 2003. — 4, № 1. — P. 83-91.

6. Trautner B.W., Darouiche R.O. Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection // Am. J. Infect. Control. — 2004. — 32, № 3. — P. 177-183.

7. Rangel-Frausto M., Wiblin T., Blumberg H. National epidemiology of mycosis survey (NEMIS): variations in rates of bloodstream infections due to Candida species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. [Text] // Clin. Infect. Dis. 1999; 29. — P. 253-258.

8. Tenke P., Kovach B., Johansen Bjerklund T.E. et al. European and Asian guidelines for the management of patients with infections associated with urethral catheter, and for the prevention of catheter-related infections // Clinical. Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. — 2008. — Т. 10, № 3. — P. 201-215.

Надійшла до редакції 15.09.2013.

Рисунок 6

